Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Rostock
Direktor: Professor Dr. Keeser

Die Beeinflussung der Lipschitz'schen Nitroreduktion und der Ureasewirkung durch Morphin und Kokain

Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Joseph Hengesbach
Bremke/Westf.

Carl Hinstorffs Hofbuchdruckerei, Rostock
1935

Referent: Professor Dr. Keeser

Die Wirkung von Morphin und Kokain auf die Gewebsatmung in vitro wurde bisher nur von Ahlgreen (1) untersucht. Ahlgreen, der die Gewebsatmung der zerkleinerten Muskulatur pankreas-diabetischer Frösche mit der Thunbergschen Methylenblaumethode prüfte, fand, daß die Atmung durch die von ihm untersuchten Alkaloide (darunter waren auch Morphin und Kokain) in geringen Konzentrationen gefördert wurde, während stärkere Konzentrationen atmungshemmend wirkten. Nach diesem Nachweis eines Einflusses von Morphin und Kokain auf Oxydationsprozesse der Gewebe erschien es wichtig, festzustellen, ob auch das Reduktionsvermögen tierischen Gewebes durch Morphin und Kokain verändert werden kann.

Die von Lipschitz (2) im Jahre 1921 ausgearbeitete Methode zur Bestimmung der Reduktionskraft lebender Zellen hat sich in vielen Untersuchungen der Folgezeit bewährt und ist auch im Rostocker Pharmakologischen Institut im Rahmen einiger Arbeiten mit Erfolg angewandt worden.

Das Verfahren von Lipschitz beruht auf der Reduktion des o-Dinitrobenzols zu Nitrophenylhydroxylamin bei der Berührung mit lebendem Gewebe. Während Dinitrobenzol selbst in Wasser unlöslich ist, stellt das Nitrophenylhydroxylamin eine wasserlösliche Verbindung von tiefgelber Farbe dar. Die bei längerem Stehen des Dinitrobenzols mit fein verteiltem Gewebsbrei entstehende Gelbfärbung wird daher zum Indikator der Reduktionsstärke und kann unter Verwendung einer Vergleichslösung von reinem Nitrophenylhydroxylamin zur quantitativen kolorimetrischen Bestimmung dienen. Als Kolorimeter bewährte sich das von Authenrieth und Königsberger angegebene einfache und zuverlässige Instrument.

In seinen ersten Untersuchungen hatte Lipschitz mit dem m-Dinitrobenzol gearbeitet. Erst nachträglich stellte sich heraus, daß die Reaktion nur dann zustande kommt, wenn jenes Präparat mit etwas o-Dinitrobenzol verunreinigt ist (3). Tatsächlich reagiert die Metaverbindung überhaupt nicht mit lebendem Gewebe. Die meisten Untersucher, die später mit dem Lipschitzverfahren arbeiteten, benutzten das m-Dinitrobenzol und

erzielten, da es mit der Orthoverbindung verunreinigt war, ganz gute Ergebnisse.

Ueber das Wesen der Wirkung der Nitroverbindungen herrschte lange Zeit keine einheitliche Vorstellung. In neueren Arbeiten konnte dann gezeigt werden, daß ihre typische Giftwirkung auf einer Umwandlung des Blutfarbstoffes in Methaemoglobin beruht, und daß weiter die chromatische Nitrogruppe selbst kein Methaemoglobin bildet. Für die Klärung ihrer Wirkungsweise waren von grundlegender Bedeutung P. Ehrlichs farbenanalytische Versuche, welche ergaben, daß erst die Reduktionsprodukte der Nitroverbindungen toxisch wirken. Wird nämlich einem Kaninchen eine Suspension von m-Dinitrobenzol in die Lunge gegossen, so tritt eine intensive Braunfärbung des Lungenblutes auf, die sich bei spektroskopischer Untersuchung als Methaemoglobin erweist. Diese Veränderung des Lungenblutes beruht darauf, daß das Lungengewebe ein sehr starkes Reduktionsvermögen besitzt, und infolgedessen die eingeführten Nitroverbindungen zu reduzieren vermag. Weitere Versuche ergaben, daß allgemein überlebende Gewebe zugesetztes gepulvertes Dinitrobenzol in wässeriger Suspension reduzieren. Das hierbei gebildete m-Nitrophenylhydroxylamin entfaltet sehr intensive Giftwirkung auf den Blutfarbstoff. Sowohl haemolysiertes Blut als auch der Blutfarbstoff intakter Blutkörperchen wird in Methaemoglobin umgewandelt und für die Atmung unbrauchbar. Das gleiche Ergebnis zeigen Versuche am Frosch und Kaninchen, denen auf elektrisch-chemischem Wege rein dargestelltes Nitrophenylhydroxylamin verabfolgt wird. Als Hauptwirkung beobachtet man starke Dyspnoe des Tieres, beruhend auf Sauerstoffmangel infolge Methaemoglobinbildung. Die Stärke der Vergiftung ist bei den einzelnen Tieren sehr verschieden. Es ist charakteristisch, daß gleiche Mengen Muskelgewebe, das den lebenden Tieren (Frosch, Meerschweinchen, Katze, Kaninchen) entnommen wird, unter im übrigen gleichen Bedingungen ganz verschiedene Mengen von Nitrophenylhydroxylamin aus gleichen Mengen Dinitrobenzol bilden. Es ist bemerkenswert, daß der Kaninchenmuskel in geringstem Umfange die giftige Reduktionsstufe darstellt, daß ferner das Kaninchen giftige aromatische N-haltige Körper am schnellsten in pharmakologisch unwirksame Verbindungen überführt, und daß endlich sein Haemoglobin am wenigsten empfindlich z. B. gegen Nitrophenylhydroxylamin ist, sodaß die Giftwirkung bei Kaninchen wesentlich geringer ist als beim Frosch, Meerschweinchen und der Katze.

Des weiteren ist erwähnenswert, daß der angeführte Reduktionsprozeß durch Narkotika, durch 2 ‰ Chinin und 0,1 ‰

Blausäure, kurzes Erwärmen auf 60° und durch hypertonische Salzlösung gelähmt wird. Da zugefügter gepulverter Schwefel keine Abnahme der Reduktion bewirkt, erschien die Auffassung berechtigt, daß es wohl der Atmungsprozeß selbst sei, der die Dinitrobenzolreduktion veranlaßt. Diese Vermutung erwies sich als richtig, da es gelang, durch mehrmaliges Auswaschen der zerkleinerten Muskulatur die Reduktion völlig aufzuheben und sie durch Zufügen von Muskelkochsaft wieder in Gang zu bringen. Da dieser Reduktionsprozeß auch durch andere Körpergewebe erfolgt, stellt diese Reduktionsfähigkeit offenbar eine allgemeine Eigenschaft atmender tierischer und pflanzlicher Zellen dar. Bei Muskelgewebe geht dieser Reduktionsprozeß nicht mit der Phase der Kontraktion, sondern der der Erholung des Muskels einher. Endlich konnte gezeigt werden, daß die Muskulatur unter anaeroben Bedingungen eine schnellere Reduktionswirkung auf die Nitroverbindungen ausübt.

Zusammenfassend läßt sich also folgendes sagen: Die lebenden Zellen entziehen, indem sie atmen, zugeführten Nitroverbindungen den Sauerstoff und reduzieren sie zu Hydroxylaminverbindungen; diese sind im Gegensatz zu den Nitroverbindungen schwere Blutgifte, sie wandeln das Haemoglobin in Methaemoglobin um, unterbinden also die Zufuhr des für die Zellatmung notwendigen Sauerstoffs.

Nach diesen Betrachtungen sollen jetzt einige Versuche geschildert werden, in denen die Wirkung von Morphin und Kokain auf den Stoffwechselvorgang geprüft wurde.

Versuchstechnik.

Eine abgewogene Menge feingeschnittener Froschmuskulatur wurde in Erlenmeyer-Kölbchen mit 20 ccm Froschringerlösung vermischt. Angesetzt wurden drei Kölbchen mit je 20 ccm Froschringerlösung, darauf erfolgte im ersten Kolben, dessen Inhalt später als Kontroll-Lösung diente, ein Zusatz von 2 bzw. 1 bzw. 0,5 ccm Froschringerlösung, zum zweiten Kolben die entsprechenden Mengen Kokainlösung, zum dritten Kolben die entsprechenden Mengen Morphinlösung. Weiterhin wurde die Konzentration noch geändert durch Zusatz verschiedenprozentiger Kokain- bzw. Morphinlösungen. Im übrigen blieben die Ansätze gleich. Nach einer Viertelstunde wurden je 0,3 g Dinitrobenzol zu allen drei Kolben hinzugefügt und nach mehrmaligem Schütteln der Inhalt sich selbst überlassen. Nach 6 Stunden wurde die Flüssigkeit aller drei Kolben filtriert, die Filtrate im Authenrithschen Kolorimeter verglichen und fest-

gestellt, ob Morphin oder Kokain die Nitrophenylhydroxylaminbildung gegenüber der Kontrolle gefördert bzw. gehemmt wurde.

1. Versuch:

Es wurden zu Ansatz I 2,0 ccm aq. dest., zu Ansatz II 2 ccm einer 4 %igen Lösung Morphin. hydrochloric. und zu Ansatz III 2 ccm einer 4 %igen Lösung von Cocain. hydrochloric. hinzugegeben, sodaß die Konzentration an Morphin. hydrochloric. bzw. Cocain. hydrochloric. 0,364 g % betrug. Nach 24 Stunden fanden sich im Ansatz I und III dieselben Farbtiefen, während in Ansatz II eine leichte Hemmung der Nitrophenylhydroxylaminbildung um 14 % festzustellen war.

2. Versuch:

Ansatz wie bei Versuch 1.

Nach 24 Stunden fand sich kein Unterschied in der Nitrophenylhydroxylaminbildung.

3. Versuch:

Ansatz wie bei Versuch 1.

Es zeigte sich in den Ansätzen II und III eine geringfügige Hemmung der Nitrophenylhydroxylaminbildung um 5 %.

4. Versuch:

Die Konzentration an Morphin. hydrochloric. in Ansatz II und an Cocain. hydrochloric. in Ansatz III betrug 22,8 mg %. Es fand sich nach 24 Stunden keine Beeinflussung des Nitrophenylhydroxylaminbildung.

5. und 6. Versuch:

Ansätze wie beschrieben, nur betrug die Konzentration an Morphin. hydrochloric. in Ansatz II und an Cocain. hydrochloric. in Ansatz III 12,2 mg %. Es zeigte sich in keinem der beiden Versuche ein Einfluß auf die Nitrophenylhydroxylaminbildung.

7. Versuch:

Hier betrug die Konzentration an Morphin. hydrochloric. in Ansatz II und an Cocain. hydrochloric. in Ansatz III 4,29 mg %. Nach 24 Stunden fand sich in Ansatz II eine Förderung der Nitrophenylhydroxylaminbildung um 11 % und in Ansatz III um 5 %.

8. Versuch:

Ansatz wie in Versuch 7.
Nach 24 Stunden war ebenfalls eine Förderung der Nitrophenylhydroxylaminbildung durch Morphin um 18 % und durch Kokain um 30 % festzustellen.

9. Versuch:

Ansatz wie in Versuch 7.
Nach 24 Stunden war die Nitrophenylhydroxylaminbildung in allen 3 Ansätzen gleich.

10. Versuch.

Ansatz wie in Versuch 7.
In Ansatz II fand sich eine Förderung der Nitrophenylhydroxylaminbildung um 27 %, während Ansatz III sich wie Ansatz I verhielt.

11. Versuch:

Ansatz wie in Versuch 7.
Es fand sich nach 24 Stunden eine Förderung der Nitrophenylhydroxylaminbildung in Ansatz II um 8 %, in Ansatz III um 10 %.

12. Versuch:

Die Konzentration an Morphin. hydrochloric. in Ansatz II und an Cocain. hydrochloric. in Ansatz III betrug 2,44 mg %. Nach 24 Stunden war die Nitrophenylhydroxylaminbildung in Ansatz II um 20 %, in Ansatz III um 10 % gegenüber Ansatz I vermehrt.

13. Versuch:

Ansatz wie in Versuch 12.
Nach 24 Stunden Vermehrung der Nitrophenylhydroxylaminbildung in Ansatz II um 15 %, in Ansatz III um 7 % gegenüber Ansatz I.

14. Versuch:

Ansatz wie in Versuch 12.
Nach 24 Stunden war die Nitrophenylhydroxylaminbildung in Ansatz II um 8 %, in Ansatz III um 10 % vermehrt gegenüber dem Kontrollansatz I.

15. Versuch:

Ansatz wie in Versuch 12.
Nach 24 Stunden war die Nitrophenylhydroxylaminbildung in Ansatz II um 10 %, in Ansatz III um 7 % gegenüber dem Kontrollansatz vermehrt.

16. Versuch:

Ansatz wie in Versuch 12.
Vermehrung der Nitrophenylhydroxylaminbildung in Ansatz II um 12 %, in Ansatz III um 10 % gegenüber der Kontrolle.

17. Versuch:

Die Konzentration der Alkaloide betrug in Ansatz II und III 0,48 mg %. Nach 24 Stunden zeigte Ansatz II gegenüber dem Kontrollansatz keinen Unterschied, während in Ansatz III eine Förderung der Nitrophenylhydroxylaminbildung um 8 % festzustellen war.

18. und 19. Versuch:

Ansatz wie in Versuch 17.
Nach 24 Stunden kolorimetrisch kein Unterschied der drei Ansätze.

20. Versuch:

Die Konzentration an Morphin. hydrochloric. in Ansatz II und an Cocain. hydrochloric. in Ansatz III betrug 0,12 mg %. Es fand sich nach 24 Stunden kein Unterschied in der Nitrophenylhydroxylaminbildung zwischen den drei Ansätzen.

21. Versuch:

Die Konzentration an Morphin. hydrochloric. in Ansatz II und an Cocain. hydrochloric. in Ansatz III betrug 0,024 mg %. Auch in diesem Versuch nach 24 Stunden kolorimetrisch kein Unterschied zwischen den drei Ansätzen.
Aus den Versuchen geht hervor, daß Konzentrationen von 12,2 bis 364 mg % Morphin. hydrochloric. bzw. Cocain. hydrochloric. das Reduktionsvermögen der Froschmuskulatur nicht — wenigstens nicht regelmäßig — beeinflussen. Schwächere Konzentrationen des salzsauren Morphins bzw. Kokains von 4,29 bis 2,44 mg % übten dagegen in der überwiegenden Mehr-

zahl der Versuche eine deutlich fördernde Wirkung auf die Reduktion des Dinitrobenzols zu Nitrophenylhydroxylamin durch Froschmuskulatur aus. Noch schwächere Konzentrationen (0,48 bis 0,024 mg %) waren ebenso wie die hohen Konzentrationen wirkungslos.

Wir wandten uns dann weiter der Frage zu, ob Morphin oder Kokain die Wirkung der Urease zu beeinflussen vermag. Ueber den Einfluß von Morphin, Kokain und anderen Alkaloiden auf enzymatische Vorgänge liegen bereits einige Untersuchungen vor, aus denen im wesentlichen hervorgeht, daß ähnlich wie durch andere Stoffe, z. B. durch verschiedene Elektrolyte in höheren Konzentrationen hemmende, in schwachen Konzentrationen fördernde Wirkungen auf einige Fermentprozesse beobachtet wurden. Manche Untersucher fanden dagegen keinerlei Einwirkung.

Bei der kritischen Durchsicht der Literatur, die sich mit der Einwirkung von Morphin und Kokain auf die Fermente befaßt, ist zunächst zu sagen, daß vom Standpunkt unserer heutigen Kenntnisse aus die meisten älteren Arbeiten hierüber abzulehnen sind, da bei ihnen heute als ausschlaggebend für Art und Stärke von Fermentwirkungen erkannte Faktoren wie Wasserstoffionenkonzentrationen und Pufferung der Versuchsansätze, Reinheitsgrad des Ferments usw. nicht berücksichtigt wurden. Nicht so unbedingt zu verwerfen sind dagegen diese Arbeiten, wenn man bedenkt, daß sie letzten Endes unternommen wurden, nicht um Beiträge für die Theorie enzymatischer Reaktionen zu liefern, sondern um aus den in vitro gewonnenen Ergebnissen Rückschlüsse auf Stoffwechselvorgänge des unter Morphin- oder Kokainwirkung stehenden Organismus zu ermöglichen. Es ist dann nicht ohne weiteres ersichtlich, bis zu welchem Grade die Forderungen der modernen Fermentforschung für die aus solchen Gründen vorgenommenen Untersuchungen zu erfüllen sind, denn auch im Organismus dürfte ja diesen Forderungen nicht genügt werden, da unsere Kenntnisse, unter welchen Verhältnissen und Bedingungen die Fermente im Leben und Organismus arbeiten, gering sind, und nur das ist sicher, daß sie durch alle möglichen Beimengungen, dauernde Milieuänderungen, durch Nebeneinanderlaufen vieler Prozesse außerordentlich kompliziert sind. Es erscheint daher möglich, daß Morphin und Kokain auf einige Fermente je nach den gerade vorliegenden Bedingungen bald fördernd, bald hemmend oder auch gar nicht einwirken, so wie es in den bisherigen Arbeiten in vitro gefunden wurde.

Die Urease ist ein desamidierendes Enzym, das den Harnstoff in CO_2 und NH_3 zerlegt. Die Hauptquelle dieses Enzyms sind die Bakterien der ammoniakalischen Harngärung. Die Isolierung der Urease aus bakteriellem Material gelang aber erst ziemlich spät (4). Auch ist man erst viel später auf die allgemeine Verbreitung der Urease in der Pflanzenwelt aufmerksam geworden, für deren Eiweißstoffwechsel dem Enzym insofern eine besondere Bedeutung zukommt, als es durch die Zerlegung des intermediär gebildeten Harnstoff, der nicht ausgeschieden wird, für die Nutzbarmachung und Bereitstellung des zur Eiweißsynthese benötigten Stickstoffs in Form von Ammoniak gebraucht wird. So ist das Ferment in den eiweißhaltigen Pflanzensamen, vor allem der Leguminosen, besonders reichlich enthalten. Insbesondere die Samen der Sojabohne (Glycina hispida), in denen das Ferment zuerst von Takeuchi und Jonone (5) beschrieben wurde und denen es durch wässerige Mittel leicht entzogen werden kann, haben sich als geeignetes Ausgangsmaterial zu seiner Darstellung und Untersuchung erwiesen. In der Tierwelt findet sich nach älteren Angaben Urease nur ganz vereinzelt und in geringen Mengen. Kürzlich gelang es jedoch Majorow (6), Urease in verschiedenen Organen einiger Tiere nachzuweisen. Besonders reichlich findet sich nach diesen Untersuchungen beim Hund Urease in der Magenschleimhaut, in der Hypophyse, in den Nebennieren und dem Eierstock. Nieren, Milz, Leber und Lunge waren dagegen frei von Urease. Ihr Vorkommen scheint jedoch bei den einzelnen Tierarten zu wechseln, so konnte Majorow außer beim Hund nur noch bei der Katze und bei der Kuh Urease in der Magenschleimhaut nachweisen, während die Magenschleimhaut von Kaninchen, Schweinen und Schafen kein Urease enthielten. Interessant ist ferner, daß die tierische Urease sich in Bezug auf ihre Inaktivierung durch Hitze von pflanzlicher Urease unterscheidet. Nach Majorow wird nämlich tierische Urease bereits durch Erwärmen auf 60° zerstört, während vegetabilische Urease, deren Temperaturoptimum ja zwischen 50 und 55° liegt, erst bei 80° inaktiv wird. Die für die Ureasewirkung optimale Wasserstoffzahl, die van Slyke und Zacharias (7) zu $p_H = 7{,}0$ bestimmten, findet man nach Lövgren (8) abhängig von der Konzentration des Harnstoffs, in dem gleiche prozentische Aenderungen der Harnstoffkonzentration gleiche prozentische Aenderungen des p_H-Optimums zur Folge haben. Diese Zunahme der Wasserstoffzahl bei fallender Substratkonzentration scheint die natürliche Aufgabe des Enzyms zu erleichtern, bei dessen Wirkung die Alkalität unter dem Einfluß des gebildeten Ammo-

niaks bzw. Ammoniumkarbonats in dem Maße steigt, wie die Harnstoffkonzentration zurückgeht.

Für unsere Untersuchungen benutzten wir das Ferment der Sojabohnen. Diese wurden zu einem feinen Pulver zermahlen, das Mehl in eine Nutsche gefüllt und mit Petroläther übergossen, der nach einer Stunde abgesaugt wurde. Diese Prozedur wurde mehrmals wiederholt und das entfettete Mehl zum Trocknen auf Filtrierpapier ausgebreitet. Von diesem Sojamehl wurden dann abgewogene Mengen in einzelnen Versuchsansätzen zugefügt.

Die Versuche gestalteten sich folgendermaßen:

Es wurden 1,2 g Harnstoff in 180 ccm aq.dest. und 20 ccm einer 0,2 n-Phosphatpufferlösung vom p_H 7,2 gelöst. In drei Kölbchen wurden je 0,1 g des Sojamehls eingewogen und darauf mit der Pipette 20 ccm der Harnstofflösung zugegeben. In das erste Kölbchen kam ein bestimmtes Volumen aq. dest., in das zweite dasselbe Volumen von Morphin. hydrochloric., in das dritte dasselbe Volumen einer Lösung von Cocain. hydrochloric. Außerdem wurde jedem Ansatz ein Tropfen einer Phenolphthaleinlösung zugesetzt. Die drei Kölbchen werden zugekorkt und in den Brutschrank bei 37° gebracht, in bestimmten Zeitabständen herausgenommen und eine evtl. entstehende Rosafärbung durch Titration mit 0,1 Normal-Salzsäure zum Verschwinden gebracht. Die verbrauchte Salzsäuremenge diente als Maß zur Bestimmung der Größe der Harnstoffzerlegung.

	Versuch 1.			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,62	0,79	0,82	1,70	0,92	0,93
90 „	2,13	1,86	1,80	1,92	1,76	1,72
135 „	1,82	1,54	1,52	1,87	1,54	1,48
180 „	2,10	1,84	1,80	2,14	1,90	1,88
5 Std.	5,2	4,63	4,70	6,4	5,78	5,70

Die Morphin- und Kokainkonzentration betrug in beiden Versuchen 0,3636 g %. Besonders die ersten Titrationen zeigten einen deutlich hemmenden Einfluß des Morphins und Kokains auf die Harnstoffspaltung, während sich die späteren Werte einander nähern. Ein Unterschied in der Wirkung beider Alkaloide war kaum festzustellen, vielleicht hemmte Kokain etwas stärker.

	Versuch 2.			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,66	0,78	0,81	1,98	1,02	1,14
90 „	2,43	2,04	1,96	2,78	2,43	2,24
135 „	1,97	1,86	1,83	2,40	2,22	2,15
180 „	2,10	2,05	2,03	—	—	—
5 Std.	4,97	4,46	4,40	5,03	4,87	4,85

Die Versuche wurden angesetzt wie die vorigen, nur daß die Alkaloidkonzentration 0,1818 g % betrug. Die Hemmung durch die Alkaloide war deutlich zu erkennen. Kokain scheint auch in diesem Versuche stärker zu hemmen.

	Versuch 3.			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,79	1,17	1,23	2,11	1,73	1,70
90 „	2,57	2,00	2,13	2,15	1,80	1,75
135 „	2,12	2,00	1,97	1,93	1,80	1,69
180 „	1,82	1,79	1,63	2,11	2,00	2,00
5 Std.	4,89	4,93	4,81	4,70	4,65	4,67

Ansatz wie geschildert. Die Alkaloidkonzentration betrug 0,0909 g %. Es ergab sich wiederum eine deutliche Verlangsamung der Harnstoffzerlegung, doch ist in diesem Versuch eine stärker hemmende Wirkung des Kokains kaum zu erkennen.

	Versuch 4			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,49	0,96	0,79	1,46	0,94	0,95
90 „	1,75	1,15	1,23	1,92	1,65	1,57
135 „	2,11	1,98	1,87	1,95	1,73	1,75
180 „	1,97	1,90	1,92	2,03	1,97	1,88
5 Std.	4,32	4,20	4,20	4,70	4,53	4,64

Ansatz wie beschrieben. Morphin- und Kokainkonzentration 0,001515 g %. Auch hier noch deutliche Hemmung. Eine etwas stärkere Wirkung des Kokains ist zu erkennen.

	Versuch 5.			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,14	0,72	0,58	0,95	0,70	0,65
90 „	1,64	1,61	1,38	1,46	1,35	1,25
135 „	2,72	2,46	2,39	2,54	2,41	2,40
180 „	2,10	2,00	2,00	1,98	1,90	1,85
5 Std.	4,75	4,86	4,70	4,40	4,35	4,37

Ansätze wie beschrieben. Auch die Konzentrationen an Morphin und Kokain war ungefähr dieselbe. In Versuch 4 wurden 1 ccm einer 1 %igen Morphin- bzw. Kokainlösung in 5,2 ccm einer 0,5 %igen Morphin- bzw. Kokainlösung zupipettiert. Das Versuchsergebnis war das gleiche wie bei 4, nur das hier die stärkere Wirkung des Kokains deutlicher in Erscheinung trat.

	Versuch 6.			Kontrollversuch		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,47	1,30	1,18	1,93	1,81	1,83
90 „	1,81	1,70	1,64	1,84	1,69	1,47
135 „	1,12	1,19	1,00	1,82	1,73	1,74
180 „	2,72	2,32	2,28	2,14	2,10	2,10
5 Std.	3,94	3,90	3,86	4,12	3,95	4,00

Ansatz wie beschrieben. Alkaloidkonzentration 0,002273 g%. Die hemmende Wirkung der Alkaloide war nicht mehr so ausgesprochen wie in den vorigen Versuchen, doch war sie auch hier noch deutlich. Kokain hemmte etwas stärker als Morphin.

	Versuch 7.			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,62	1,54	1,58	1,93	1,95	1,87
90 „	1,77	1,73	1,69	1,79	1,76	1,78
135 „	2,00	1,92	1,88	1,90	1,89	1,92
180 „	1,93	1,90	1,91	2,05	2,00	2,00
5 Std.	4,12	4,00	4,10	3,80	3,84	3,83

Konzentration 0,00091 g %. Die Titrationswerte der Morphin- und Kokainansätze näherten sich denen des Vergleichs-

ansatzes mit aqua dest., besonders bei den Titrationen nach 3 bzw. 5 Stunden. Immerhin war eine geringe Hemmung der Harnstoffbildung noch erkennbar.

	Versuch 8.			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,92	1,64	1,90	2,00	1,93	2,00
90 „	1,65	1,48	1,69	1,56	1,61	1,67
135 „	1,53	1,43	1,39	1,31	1,28	1,09
180 „	1,90	1,92	1,87	1,83	1,85	1,91
5 Std.	3,36	3,25	3,36	3,45	3,37	3,40

Alkaloidkonzentration 0,00046 g %. Im ersten Ansatz hemmte Morphin noch etwas, während Kokain und im zweiten Ansatz beide Alkaloide keinen deutlichen Einfluß mehr ausübten.

	Versuch 9.			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,83	1,86	1,93	1,76	1,75	1,84
90 „	1,79	1,76	1,75	1,19	1,24	1,20
135 „	1,85	1,87	1,85	1,69	1,74	1,70
180 „	2,00	2,12	1,98	1,90	1,94	2,00
5 Std.	3,90	4,05	4,00	4,15	4,19	4,17

Dieser Versuch verhielt sich zum vorigen wie 5 zu 4. Der hemmende Einfluß des Morphins und Kokains erwies sich als völlig aufgehoben.

	Versuch 10.			Kontrollversuch.		
	ccm verbrauchte n/10 HCl.			ccm verbrauchte n/10 HCl.		
Zeit	Aq. dest.	Morph.	Kokain	Aq. dest.	Morph.	Kokain
45 Min.	1,61	1,81	1,74	1,18	1,23	1,20
90 „	1,38	1,54	1,52	1,93	1,94	1,96
135 „	2,23	2,40	2,40	1,72	1,86	1,80
180 „	1,80	1,76	1,82	1,90	2,00	1,95
5 Std.	4,36	4,50	4,60	4,20	4,25	4,20

Ansatz wie vorher. Alkaloidkonzentrationen 0,00023 g %. Bei dieser Konzentration scheinen die Alkaloide in geringem Maße

die Harnstoffspaltung zu fördern, besonders deutlich in den ersten Titrationsversuchen des ersten Ansatzes.

Ergebnis: Morphin und Kokain üben eine deutliche Hemmung auf die Harnstoffspaltung durch Soja-Urease aus. Erst wenn die Alkaloidkonzentration unter 0,00046 g % gesunken ist, läßt sich kein hemmender Einfluß mehr feststellen. Ein Unterschied zwischen den beiden Alkaloiden war nicht deutlich, vielleicht hemmte das Kokain etwas stärker.

Zusammenfassung.

1. Es wurde das Reduktionsvermögen von Froschmuskulatur unter der Wirkung von Morphin und Kokain mit Hilfe der Lipschitzschen Nitroreduktion geprüft. Es zeigte sich, daß bei Konzentrationen des Morphin. hydrochloric. bzw. Cocain. hydrochloric. zwischen 4,29 und 2,44 mg % die Reduktion des Dinitrobenzols zu Nitrophenylhydroxylamin durch Froschmuskulatur gefördert wurde. Ein Unterschied zwischen den beiden Alkaloiden wurde nicht gefunden. Stärkere und ebenso schwächere Konzentrationen an Morphin. hydrochloric. bzw. Cocain. hydrochloric. waren ohne Einfluß.

2. Außerdem wurde die Urease der Sojabohnen hinsichtlich ihrer Beeinflußbarkeit durch Morphin. hydrochloric. und Cocain. hydrochloric. bei der Harnstoffspaltung untersucht.

Es fand sich, daß Morphin. hydrochloric. und Cocain. hydrochloric. die Ureasewirkung deutlich hemmten, und zwar bis zu recht niedrigen Konzentrationen der Alkaloide herab. Erst wenn Alkaloidkonzentrationen unter 0,00046 g % angewandt wurden, ließ sich keine Einwirkung auf die Urease mehr feststellen.

Literatur.

1. Ahlgreen: Klinische Wochenschrift 3, 1924.
2. Lipschitz u. Gottschalk: Pflügers Archiv f. d. gesamte Physiologie, Bd. 191, 1921.
3. Dsb. Bd. 205, 1924.
4. Jakoby: Biochem. Zeitschrift, Bd. 87, 1917.
5. Takeuchi u. Jonone: Journ. of the Colleg of Agric. Imp. Univers. Tokio. Bd. 1, 1909.
6. Van Slyke u. Zacharias: Journ. of Biol. Chem., Bd. 19, 1914.
7. Lövgren: Bioch. Zeitschrift, Bd. 137, 1923.

Lebenslauf.

Am 5. Oktober 1904 wurde ich als Sohn des Landwirts Franz Hengesbach zu Bremke in Westfalen geboren. Nach 5 Jahren Volksschule besuchte ich die Humanistischen Gymnasien in Attendorn und Arnsberg und legte Ostern 1926 die Reifeprüfung ab. Seit dieser Zeit studiere ich — mit zweimaligen Unterbrechungen infolge Krankheit — Medizin an den Universitäten München, Köln, Marburg, Innsbruck und Rostock.